

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЩЕЛОЧНОГО ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА ИЗОЛИРОВАННЫХ КЛЕТОК ХОЗЯИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВИСЦЕРАЛЬНОМ ТОКСОКАРОЗЕ

Зорина В.В., Бекиш В.Я.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Личинки токсокар во время инвазии способны вызывать рост числа соматических клеток с микроядрами, индуцировать увеличение уровней микроядродержащих клеток семенниках животных, способствовать снижению активности сперматогенеза [1]. Цитогенетические изменения в клетках мышей при висцеральном токсокарозе зависят от дозы введенного инвазионного материала при заражении и приходятся на периоды первичной и повторных миграций паразитов в тканях хозяина [1].

Цель исследования – изучить возможные генотоксический и цитотоксический эффекты секреторно-экскреторно-соматических продуктов личинок *Toxosara canis* на клетки костного мозга и семенников инвазированных животных.

Материалы и методы. Исследование проведено на 140 мышак-самцах линии СВА массой 16-18 г, разделенных на четыре группы по 35 животных в каждой. Мышам 1-ой группы (негативный контроль) вводили *per os* 0,2 мл 2 % крахмального геля, животных 2-ой – заражали инвазионными яйцами *T. canis* внутрижелудочно в дозе 5, 3-ей – 20 и 4-ой группы 40 яиц/г массы тела [2]. Забой контрольных и зараженных животных (по 5 на срок наблюдения) проводили путем декапитации на 3, 7, 14, 21, 28, 60 и 90-й дни от начала инвазии. Щелочной гель-электрофорез изолированных клеток костного мозга и семенников (метод ДНК-комет) проводили по N.P. Singh et al. [5] в нашей модификации [3]. Учет повреждений молекулы ДНК проводили путем анализа цифровых изображений с помощью автоматической программы “CASP v. 1.2.2”. В микропрепарате подсчитывалось по 100 клеток, в каждой из которых учитывали

“момент хвоста”. Для оценки цитотоксического воздействия секреторно-эксреторно-соматических продуктов личинок токсокар в 100 случайно выбранных клетках определяли процент апоптотических. Результаты обрабатывались статистически с использованием программы Excel 2002.

Результаты и обсуждение. Установлено, что секреторно-эксреторно-соматические продукты личинок токсокар обладают генотоксическим воздействием как на соматические, так и на генеративные клетки инвазированного хозяина, вызывая увеличение количества однопочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках костного мозга и семенников *in vivo*. Этот эффект зависит от особенностей биологии паразита и наиболее выражен в период активной миграции личинок токсокар по тканям хозяина с 7 по 21 день инвазии. На 28-й день опыта отмечалось отсутствие повреждений ДНК клеток костного мозга мышей при дозах заражения 5, 20 яиц/г и семенников при дозах заражения 5, 20, 40 яиц/г. Данные изменения, по-видимому, были связаны с остановкой миграции личинок токсокар по тканям хозяина. К 60-му дню опыта при дозе заражения 40 яиц/г отмечалось возобновление миграции паразитов, которое характеризовалась синхронным возрастанием уровней повреждений ядерной ДНК клеток костного мозга и семенников у инвазированных животных. Генотоксическое влияние токсокарозной инвазии на клетки хозяина зависит от дозы введенного инвазионного материала при заражении и кратно достоверно возрастает при ее увеличении. Дозозависимое воздействие четко прослеживалось на росте “момента хвоста” клеток костного мозга в 1,6 - 2,7 раза при увеличении дозы заражения с 5 до 20 и до 40 яиц/г на 14 день наблюдения и с 20 до 40 яиц/г на 7 и 21 дни опыта. Этот эффект наблюдался также в семенниках инвазированных мышей при увеличении дозы заражения с 20 до 40 яиц/г на 14, 21 и 60-й дни опыта.

Личинки токсокар во время инвазии обладают цитотоксическим воздействием, которое характеризовалось ростом процента апоптотических клеток костного мозга и семенников инвазированных животных при высоких дозах заражения (20 и 40 яиц/г) на 14 день инвазии. Этот эффект не зависел от дозы заражения.

Генотоксические и цитотоксические повреждения клеток костного мозга и семенников мышей, инвазированных личинками токсокар, можно связать с развитием окислительного стресса в организме хозяина при гельминтозах, а также со способностью секреторно-эксреторно-соматических продуктов паразитов

непосредственно повреждать ядерный аппарат клеток хозяина и стимулировать в них апоптоз. Нами было показано, что при экспериментальном висцеральном токсокарозе на 30-й день инвазии в семенниках мышей отмечается повышение уровней продуктов перекисного окисления липидов и снижение активности ферментов – антиоксидантов [1].

При широком спектре повреждений в соматических и генеративных клетках хозяина, индуцированных метаболитами личинок токсокар, возможные цитогенетические и морфологические изменения эмбриональных клеток при миграционном токсокарозе и аскаридозе остаются пока неизученными. В тоже время J. Blaszkowska было показано, что трипсиновый и α - химотрипсиновый ингибиторы из тканей *Ascaris lumbricoides* и *Ascaris suum* обладают эмбриотоксическим и тератогенным действиями, достоверно повышая число погибших эмбрионов и вызывая рост числа зародышей с расщелинами неба, микрогнатиями, сращением ребер, грыжами спинного и головного мозга [4]. В дальнейшем представляет интерес исследовать воздействие секреторно-эксcretорно-соматических продуктов мигрирующих личинок *T. canis* так и *A. suum* на генетический аппарат эмбриональных клеток зародышей, а также изучить возможные морфологические изменения в эмбрионах самок мышей, вызванные инвазиями гельминтов.

Выводы.

1. Метаболиты личинок токсокар обладают генотоксическим и цитотоксическим воздействиями на соматические и генеративные ткани хозяина, вызывая рост односторонних разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной молекулы ДНК, апоптотических клеток в костном мозге и семенниках. Генотоксическое воздействие наблюдается в периоды высокой биологической активности паразитов (первичной и повторной миграции паразитов в тканях хозяина), а цитотоксическое – на 14 день инвазии.

2. Генотоксическое влияние метаболитов личинок токсокар на соматические и генеративные клетки хозяина возрастает при увеличении дозы введенного инвазионного материала при заражении.

Литература:

1. Бекиш, В. Я. Состояние генома хозяина при гельминтозах / В. Я. Бекиш, О.-Я.Л. Бекиш. – Витебск: Изд-во ВГМУ, 2004. – 218 с.

2. Бекиш, В. Я. Экспериментальная модель висцерального токсокароза / В. Я. Бекиш, Л. Э. Бекиш, В. И. Колмогоров // Теоретич. и практические вопросы медицины и фармации: матер. конф. студ. и молодых ученых. – Витебск, 2000. – С. 26–29.

3. Дурнев, А. Д. Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и

синтетических соединений: методические рекомендации, утв. РАМН и РАСН / А. Д. Дурнев [и др.]. – М., 2006. – 27 с.

4. Blaszkowska, J. Embryotoxic and teratogenic action of trypsin inhibitor of *Ascaris lumbricoides* in mice / J. Blaszkowska // *Acta Parasitologica*. – 1998. – Vol. 43, N 2. – P. 103–108.

5. A Simple Technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells / N. Singh [et al.] // *Exp. Cell Research*. – 1988. – Vol. 175. – P.184–191.